

200829010B

厚生労働科学研究費補助金

新興・再興感染症研究事業

# 薬剤耐性菌等に関する研究

(H18 - 新興・一般 - 011)

平成18・19・20年度 総合研究報告書

研究代表者 荒川 宜親

平成21(2009)年4月

I. 総合研究報告書  
(平成18～20年度)

## 薬剤耐性菌等に関する研究

研究代表者 荒川 宜親（国立感染症 細菌第二部）

### 研究要旨

国内外の医療現場では、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA) やバンコマイシン耐性腸球菌(VRE)に加え、近年、複数の抗菌薬に耐性を獲得した緑膿菌(MDRP)やアシネトバクター属菌など様々な菌種において多剤耐性株が出現・蔓延するなど大きな問題となっており、またそれらによる感染症の発生が、医療先進国のみならず発展途上国でも、現実的な障碍となっている。そこで、本研究班では、国内医療施設における主要な病原細菌における薬剤耐性の獲得状況や各種薬剤耐性菌の分離状況の監視、それらによる感染症の発生動向を把握し、国内の医療機関における院内感染対策を支援するための、「院内感染対策サーベイランス (JANIS)事業」（平成 12 年より厚労省により開始）の検査部門、全入院患者部門、集中治療(ICU)部門、手術部位感染症(SSI)部門、新生児集中治療(NICU)部門の 5 つの部門サーベイランスの運用や改善のため、平成 18 年度から 3 年間、専門的かつ学術的な観点から様々な研究や支援を行なった。さらに、「院内感染対策のための指針」を作成するための「医療機関における院内感染対策マニュアル作成のための手引き (V5)」の作成などをおこなった。同時に、各々のサーベイランス部門の改善や精度向上のための個別の研究が行なわれた。一方、国内の医療機関で分離された各種の病原細菌の中で、既存および新型の薬剤耐性機序を獲得した菌株について、細菌学的、分子生物学的、分子疫学的な観点から様々な詳細な解析などを実施し、同時に、それらの成果に基づいて簡便な検査法の開発などを試みた。その結果、VRE や MDRP などの地域的・全国的な分離状況の実態把握、プラスミド媒介性の各種新型薬剤耐性機構、例えば、アミノ配糖体超高度耐性に関与する 16S rRNA メチレーズ(RmtC や NpmA など)、フルオロキノロン排出ポンプ(QepA)産生株の分離状況、新型の CTX-M-型β-ラクタマーゼ産生株、さらに、ペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌(PRGBS)、テリスロマイシン耐性肺炎球菌など、各種の新型の薬剤耐性菌の発見、およびそれらに関する分子、遺伝子レベルでの詳細な解析を行ない、それらの成果は、海外の専門学術雑誌に多数報告された。同時に、PRGBS を簡便に検出する方法の確立、抗酸菌における薬剤耐性や宿主応答などに関する基礎的研究など、多くの成果を上げることができた。

### 研究分担者 (50 音順)

池 康嘉 群馬大学大学院 細菌感染制御学 教授  
一山 智 京都大学大学院 医学研究科  
臨床病態検査医学 教授  
畝 博 福岡大学医学部 衛生学講座 教授  
河野文夫 国立病院機構熊本医療センター 副院長  
北島博之 大阪府立母子保健総合医療センター  
新生児科 部長  
切替照雄 国立国際医療センター 感染症制御研究部  
部長  
倉田 毅 富山県衛生研究所 所長  
黒崎博雅 熊本大学大学院 構造機能物理化学分野  
助教授  
小崎繁昭 (社)日本臨床衛生検査技師会 会長  
後藤直正 京都薬科大学薬学部 薬品微生物学 教授  
小西敏郎 N T T 東日本関東病院 副院長  
小林和夫 国立感染症 免疫部 部長  
近藤信哉 東京都多摩北部医療センター 小児科部長  
柴山恵吾 国立感染症 細菌第二部 第四室 室長

鈴木里和 同上 第一室 主任研究官  
武澤 純 名古屋大学医学部救急医学/集中治療部 教授  
土手健太郎 愛媛大学医学部集中治療部 准教授  
藤本修平 群馬大学大学院 細菌感染制御学 講師  
牧野正彦 国立感染症 ハンセン病研究センター  
病原微生物部 部長  
松本哲哉 東京医科大学微生物学 教授  
松本智成 大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター  
免疫感染症学 部長  
宮崎久義 国立病院機構熊本医療センター 院長  
森兼啓太 国立感染症 感染症情報センター 主任研究官  
山口恵三 東邦大学医学部 微生物/感染症学 教授  
山本友子 千葉大学大学院微生物薬品化学 教授  
吉田勝美 聖マリアンナ医科大学 予防医学 教授  
和田昭仁 国立感染症 細菌第一部 第三室 室長

### A. 研究目的

近年、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)や

バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)のみならず、多剤耐性を獲得した緑膿菌(MDRP)やアシネトバクターなどの各種の薬剤耐性菌が、各地の基幹病院や大学附属病院などの大規模医療施設のみならず中小規模の病院においても、しばしば分離されるようになり、一部の医療機関では、同種の耐性菌が同時に複数の患者より分離されるなど、院内感染の起因菌として大きな関心事となっている。医療施設内における薬剤耐性菌の伝播・拡散による保菌者の増加は、それらによる感染症の発症リスクの上昇因子となるため、薬剤耐性菌による感染症の発症者のみならず、無症状の保菌者についても早期にその実態を把握し、それらの耐性菌の施設内伝播を阻止するための実効ある対策が重要であることが一般的な認識となりつつある。既に、1980年代より MRSA や VRE が各地の医療施設で散発的ではあるものの、院内感染症や血流感染症、術後感染症等の起因菌として分離されるようになり、1990年代の後半からは、緑膿菌や腸内細菌科のグラム陰性桿菌において第三世代セファロスポリン耐性に関与する基質拡張型β-ラクタマーゼ(ESBL)を産生する大腸菌や肺炎桿菌に加え、カルバペネム耐性を付与するメタロ-β-ラクタマーゼ(MBL)を産生する多剤耐性株などが国内各地の医療機関で検出されるようになり、これらの各種薬剤耐性菌の医療環境における更なる拡散や蔓延が強く懸念されている。

このような状況に対処すべく、1990年代後半より、個々の医療施設では、徐々に、院内感染対策委員会、感染制御チーム(ICT)などが設置されるようになり、さらに感染管理のための専任の職員が配置されるなど、医療施設内で医療行為に関連して発生する二次的な感染症、いわゆる院内感染症(病院感染症、医療関連感染症)を防止する為の様々な対策が講じられるようになってきた。

また、個々の医療施設が、自施設における薬剤耐性菌の分離状況や院内感染症患者の発生動向と他施設のそれらとを相対的に比較対比し、自施設の状況を客観的に把握し、個々の医療施設における対策の向上を支援するため、厚生労働省は平成12年度より「院内感染対策サーベイランス(JANIS)事業」を開始し、本研究班は、その運営や改善のため専門的、学術的な観点から研究活動を継続してきた。

さらに平成19年度より医療法とその施行規則が改正され、医療機関の管理者に各々の機関における耐性菌の発生動向の把握や院内感染対策の強化が義務付けられた。そこで、本研究班では、国内の医療施設における感染対策を支援するため、多数の分担研究者、研究協力者の参加により、「院内感染対策のための指針」を作成するための「医療機関における院内感染対策マニュアル作成のための手引き(V5)」の作成を行なうとともに、院内感染症の起因菌となりうる各種の病原細菌や抗酸菌における薬剤耐性機構の分子、遺伝子レベルでの解析や検査法

の開発、さらに、耐性菌の分子疫学的解析、および抗酸菌感染症における宿主応答などに関する様々な研究などを推進することを目的として多面的な研究活動を行った。

## B. 研究方法

平成18年度から20年度にかけて、本研究班では、瀬回到課題別にワーキンググループ会議などを持ち JANIS 事業の運営と改善のための研究を行ない、特に平成19年7月からの大幅な改善のため、「検査部門」、「集中治療部門(ICU)」、「全入院患者部門」、「手術部位感染症(SSI)部門」、「新生児集中治療部門(NICU)」の5つのサーベイランス部門において、JANIS 事業としての提出データやその集積方法、集計・解析方法、還元図表の内容などにおいて様々な検討や改善を行なった。また、JANIS 事業の円滑な運用のため、JANIS 事業参加医療機関に対し様々な支援を行なった。

同時に、サーベイランスデータの質的向上を図る為、細菌検査、細菌の同定や薬剤感受性試験法の精度管理法の向上を目的として3年度を通じて(社)日本臨床衛生検査技師会の微生物研究班により「臨床分離株の薬剤感受性成績調査および各種抗菌薬に対する感受性測定に関する研究」が行なわれた。

一方、臨床現場で患者より分離された様々な薬剤耐性菌(抗酸菌を含む)について、それらの細菌が獲得した新たな耐性メカニズムなどに関する基礎的な研究が、各々の研究分担者により行なわれた。たとえば、我が国で分離された汎アミノ配糖体超高度耐性緑膿菌から世界で最初に発見された、プラスミド媒介性の16S rRNA メチレーズの発見に続き、その後も相次いでその変種の16S rRNA メチレーズを発見した。また、プラスミド媒介性のフルオロキノロン排出ポンプ(QepA)などについて、国内分離株での調査が継続された。また、肺炎球菌におけるケトライド耐性機構の解析、B群連鎖球菌におけるペニシリン低感受性株(PRGBS)の出現の分子レベルでの確認、新型のCTX-M-型β-ラクタマーゼの解析、さらに、近年急増傾向にあるセフトキサシム/セフトリアキソン耐性大腸菌や VRE、MDRP の分子疫学解析など多様な解析や研究を行なった。さらに得られた研究成果に基づき、PRGBS や OXA-型β-ラクタマーゼ産生株、メタロ-β-ラクタマーゼ産生株などの簡便な検査・解析法の開発や改善などについて種々検討を行なった。

(倫理的側面での配慮)

JANIS 事業で提出されるデータは、感染症の起因菌の種類や感受性試験結果、感染症患者の ID、入院日、基礎疾患名、感染症名などの臨床情報の一部の情報に限られ、しかも患者 ID は提出する医療施設の側で変換され、匿名化されて提出されるため、蓄積されたデータベースの情報から遡って逆に患者

個人を特定することは技術的に不可能となっている。しかも、研究班で JANIS 事業データを利用する場合は、各々の施設長の許諾を個別に得て実施している。尚、研究班外へのデータの漏出などが発生することのないよう、その取り扱いについては、データを格納するパソコンを鍵のかかる部屋に設置し、起動時にパスワードを設定し、管理者を限定する等十分な安全対策を行っている。

## C. 研究結果

### 1. JANIS 事業の安定運用と改善に関する研究

#### a. JANIS 事業の運用と改善

平成 12 年度より開始された院内感染対策サーベイランス(JANIS)事業について、参加医療機関の JANIS 担当者の負担の軽減と還元データの活用性、有用性の向上などを旨とし、検査部門、集中治療(ICU)部門、全入院患者部門、手術部位感染症(SSI)部門、新生児集中治療(NICU)部門の5つの部門サーベイランスにおいて、平成 19 年 7 月に大幅な改善を行なった。具体的には、厚生労働省に提出する「必須データ」の項目の絞り込みと入力方法・データ提出方法の改善などである。また、還元データについても、従来のような単純な集計結果ではなく、個々の参加施設が自施設の位置を、全国的な平均的データと比較対比して認識可能となるようにし、JANIS 事業の還元図表が各々の医療機関の院内感染対策委員会や ICT の会議で資料として即使用できるような図表形式で還元することになった。さらに、個々の参加医療機関の特性に応じたリスク調整が必要な ICU 部門においては、従来のデバイス情報ではなく、ICU 入室日数を指標にしてリスク調整した場合でも実質的に集計結果に大きな差が認められないという研究結果に基づき、平成 19 年の改善において、ICU 部門サーベイランスでは、「患者日」を指標として、集計結果を算出することとなった。平成 20 年の 10 月よりサーベイランス参加施設の追加募集を行ない平成 21 年 1 月時点で 850 以上の医療機関が参加する多施設参加型の全国(ナショナル)サーベイランスとなっているが、データ未提出の施設も少なからず見られるので、データ提出率を向上させるための対応が必要である。また、今後も引き続き、厚労省に提出されたサーベイランスデータの精度管理や運用の改善などを進め、我が国の院内感染対策の向上に寄与するナショナルサーベイランスシステムとして発展させるべく検討と改善を継続する必要がある。

(武澤 純、土手健太郎、山口恵三、藤本修平、宮崎久義、河野文夫、小西敏郎、北島博之、畝 博、吉田勝美、森兼啓太、小崎繁昭、鈴木里和)

#### b. 有効かつ効率的なサーベイランスシステム構築に関する研究 (鈴木里和)

平成 19 年 7 月の新システム実施後、サーベ

ランス参加医療機関が 800 施設を超えたことにより、より効率的なサーベイランスの運営およびデータ精度管理体制が必要となり、その検討を行った。サーベイランスの効率的な運営のため、事務局機能を整備し参加医療機関からの問い合わせに速やかに対応可能としたほか、参加医療機関との主たる情報共有手段であるホームページの内容の整理と更新を行った。一方、サーベイランスデータの精度管理作業として、2007 年に検査部門および全入院患者部門に提出されたデータのうち疑義があるものに対して問い合わせを実施し、バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌やバンコマイシン耐性腸球菌といった感染対策上重要な耐性菌に関する報告がしばしば誤報告である事が明らかとなった。また、これらの誤報告が医療機関担当者に認識されていなかったり、認識された後も修正報告がなされなかったり、といった問題点が挙げられた。今後、参加医療機関との情報共有を促進するために、ホームページの更なる充実と事務局からの E-mail 発信といった能動的な情報発信が、サーベイランスデータの精度を維持するためには、より定期的なデータに関する問い合わせを行うとともに、疑義データの基準についての検討が必要と思われる。また、全入院患者部門サーベイランスの精度向上のため、本部門参加施設に対し「全入院患者部門サーベイランス体制・還元情報の利用に関するアンケート」を実施し、実態を把握した。

#### c. 院内感染対策サーベイランスにおける解析結果の還元・提供に関する研究 (森兼啓太)

厚生労働省事業「院内感染対策サーベイランス」のホームページに対する一般アクセスおよびログインを伴う参加施設からのアクセスログに関する解析を行なった。また、還元情報に関するアンケート調査を事業参加施設に対して行なった。

全体の総訪問件数は期間中に大幅に増加し、院内感染対策サーベイランスへの関心が増大していることが伺えた。一般参加施設も閲覧可能な季報・年報に対しては、新規に公開還元情報がアップされると直ちに最新のデータにアクセスが集中し、それ以前のものは見られなくなる傾向にあった。有効なデータ活用のためには解析結果は逐一アップすべきである。一方、事業参加施設向けにログインが必要なページ(施設ごと年報や季報の PDF ファイル)へのアクセスも漸増していたが、SSI 部門や NICU 部門など参加施設数が少ない部門ではほとんど閲覧されていなかった。

事業参加施設に対するアンケート調査は、SSI 部門(2006 年度)、ICU・全入院部門(2008 年度)に登録されている施設を対象に行なった。有効回答施設数はそれぞれ 23、101、240 施設であった。事業にデータを提出している施設の中でも、特に SSI 部門と ICU 部門で還元情報を見ていない、また情報が還元されていることを知らない施設が相当数存在した。還元情報を見ていない施設においても、情報が

十分活用されているとは言えなかった。

以上から、還元情報に関して以下の3点が必要であると考えられた：(1)より一層の迅速化、具体的には遅くとも結果集計から1年以内、(2)フィードバックしていることの事務連絡など周知徹底、(3)還元されたデータを有効に活用するための事例情報の提供

#### d. ICU部門サーベイランス研究グループ

(武澤 純、土手健太郎)

JANIS 事業の ICU 部門に継続的に参加した研究班の ICU 施設を対象として、各種院内感染関連指標の経年的変化を検討した。院内感染の原因菌としては多剤耐性菌による院内感染が増加傾向にあった。ただし、リスク調整された人工呼吸器関連肺炎、カテーテル関連血流感染、カテーテル関連尿路感染に関しては減少傾向であり、これらの施設では院内感染の発生率が低下していることが判明した。平均在院日数については減少傾向がみられた。標準化死亡比については院内感染発症患者については従来通り、院内感染非発症例比べて有意に高かった。ICU 部門サーベイランスに参加した施設においては、院内感染の患者数当たりの発生率に関して 2003 年から減少傾向が見られた。その後、院内感染の発生率は全体として 5%台で推移しているが、2005 年にはやや低下傾向を示していた。院内感染発生率は施設によりバラツキがあり、特に症例数が少ない施設においてバラツキが大きい傾向が認められた。発生率の高い施設は一貫して高い発生率で推移していたが、2005 年にはこれらの施設においても、発生率が低下しており、院内感染対策サーベイランス事業への参加が院内感染対策の改善に影響を与えている可能性が示唆された。一方、発生率の非常に低い施設も認められ、提出データの精度にバラツキがある可能性が示唆された。これは感染症の判断基準に関する施設間の解釈の相違などが影響している可能性があり、施設間の院内感染発生率の差異とその要因を明らかにするため感染症の判定方法についてのアンケート調査をおこなったところ、感染症の判定基準は一致しているものの種々の判定者により感染症の判定が行なわれており、これがデータのバラツキと関係ある可能性が示唆され、今後その点における改善が必要と考えられる。

#### e. 検査部門サーベイランスにおける問題点と対策

(山口恵三)

本研究班は厚生労働省により実施されている「院内感染対策サーベイランス事業(JANIS)」の運用に対して専門的な観点から支援し、事業の改善を図ることを目的の1つに掲げている。JANIS システムは平成 18 年 7 月に新システムに移行したが、「検査部門サーベイランス」では、サーベイランス対象の拡大と還元情報の内容改善と迅速化が新システム移行において計られることとなった。JANIS 研究グル

ープではそれを踏まえて新システム移行の前年度に当たる平成 18 年度に「検査部門サーベイランス」における問題点の抽出と改善を行った。平成 19 年度は東邦大学医療センター大森病棟の耐性菌の検出状況を改訂した JANIS 集計・解析方法と NHSN(旧 NNIS)サーベイランスによる集計・解析方法を用いて比較検討することで両者の相違点を明らかにした。なお、本研究の経過中、改訂した JANIS 集計・解析方法に問題点がないことも確認した。平成 20 年度はサーベイランス対象の拡大に伴って喀痰や尿などの常在菌の汚染を受けやすい検体からの分離菌もサーベイランスの対象になることからこれらの検体における起炎菌と常在菌の鑑別方法を喀痰分離菌について設定し、それを用いて推定起炎菌の分離頻度と薬剤感受性を求め、単純集計と比較検討した。

#### f. 薬剤耐性菌による感染症サーベイランスシステムを用いた薬剤耐性菌発生动向の監視体制のあり方に関する研究 (宮崎久義、河野文夫)

本分担研究班では、薬剤耐性菌による感染症サーベイランスシステムとして、国立病院機構(前国立病院グループ)の中から研究協力者を募り、薬剤耐性菌による感染症患者情報の収集を 1998 年 7 月から開始し、分析結果を参加施設に還元するシステムを構築し、その成果を報告してきた。

システムの構築に当たっては当初 7 施設の協力のもとに開始し、順次参加施設が増加し、2008 年 4 月から 54 施設まで増加した。

調査対象菌種は MRSA、PRSP、多剤耐性緑膿菌、メタロ-β-ラクタマーゼ産生グラム陰性桿菌、VRE、VRSA とした。

2006 年 4 月から 2008 年 9 月までを調査対象期間とし、集計を行った。総入院患者数は 1,149,769 名、薬剤耐性菌による感染症患者数は 6,277 名で、そのうち MRSA 感染症患者が 5,703 名(90.9%)であった。PRSP(PIPS を含む)感染症患者は 459 名(7.3%)、多剤耐性緑膿菌感染症患者は 98 名(1.6%)、メタロβラクタマーゼ産生グラム陰性桿菌感染症患者が 16 名(0.3%)、VRE 感染症が 1 名、VRSA 感染症の報告については無かった。薬剤耐性菌による感染率は調査期間全体で 5.46%であり、月平均の感染率は 3.65~7.63%の間を推移した。また、罹患率は調査期間全体で 4.50%であり、月平均の罹患率で 3.16%~6.03%の間を推移した。一方、施設間での較差もみられ、調査期間全体で感染率の高い施設は 40.49%、低い施設は 0.00%、罹患率の高い施設は 21.7%、低い施設では 0.00%であった。今後は協力施設の拡大とサーベイランスの精度向上を目的とし、感染動向の継続監視を図りながら施設間の較差について各施設の背景等をも考慮し、引き続き検討していくこととする。

#### g. 手術部位感染 (SSI) サーベイランスにおける薬剤耐性菌の効率のかつ高精度のデータ収集方

法のあり方に関する研究 (小西敏郎)

本邦における多施設共同 SSI サーベイランスは 1998 年 11 月より日本環境感染学会の学会事業として開始され、2002 年 7 月より厚生労働省院内感染対策サーベイランス (JANIS) 事業としても行なわれるようになった。2007 年春の JANIS 事業での施設数拡大に伴い、SSI 部門でも 6 ヶ月間で 30000 例以上の症例が登録されるようになり、この 10 年間の活動を通して、SSI サーベイランスが本邦でも広く普及してきたためと考えられる。

JANIS 事業 SSI 部門の集計結果を SSI サーベイランス研究会の集計データと比較したところ、ほぼ同様の結果が得られており、比較的精度の高い SSI サーベイランスデータが集積されたことが推察された。症例数に関しては消化器系手術では概ね多数例が登録されていたが、整形外科、心臓外科、脳外科などの手術手技では症例数が少なく、リスク階層化を行うことは困難であった。

JHAIS システムにおけるデータ収集 13 項目を評価した結果、SSI 発生リスクからみて、収集項目として概ね適当と考えられた。

医療スタッフに感染対策上有用な SSI 情報をフィードバックするためには、JHAIS システムを改変し、様々な手技を含む胃手術 (GAST) や肝胆膵手術 (BILI) などの手術手技を細分化することが適当と考えられた。

精度の高い SSI サーベイランスの普及が、本邦における周術期感染対策のさらなる改善につながり、質の高い外科治療の提供に結びつくものと思われる。

#### h. NICU における院内感染サーベイランス方法の改善および院内感染予防対策ガイドラインの作成

(北島 博之)

NICU サーベイランス研究グループでは、平成 18 年から各施設からの提出データ項目を限定して、出生体重別 (1000g 未満、1000-1499g、1500g 以上) の年間入院数および感染症発症者の出生体重区分・感染症名・起炎菌を提出データとした。平成 19 年度には入力・出力方法を改善するために NICU230 に準拠する診断項目を入力可能なエクセルソフトを開発し、次いで出力データもエクセルでほぼ自動化した。その結果、年毎に NICU 参加施設が増加し、現在 1500g 未満の極低出生体重児に関しては、日本全国での出生児の約 10 分の 1 のデータを把握して来ている。また、平成 16 年から始めた従来の研究班協力者の医師と共に働く看護師チームだけでなく、新生児看護学会標準化委員会・院内感染対策医師 (ICD) や看護師 (ICN) の参加を得て、NICU 院内感染予防対策ガイドラインの起草を行ない、平成 21 年度には草案が完成する予定である。さらに、新生児 MRSA 感染症を解析し、2004-05 年の JANIS/JANIS 全病院データ全国 27 施設の全病院データを各施設から承諾をもらい解析した毛結果、①2004-05 年で 37 例 (菌血症 4 例、肺炎 1 例) の新生児 MRSA 感染発症は全て混合病

棟の 8 施設に観察され、産科単独病棟 3 施設では発症がなかった。②2 例以上発症した 5 施設は、年間分娩数が多く (年間 500 件以上)、分娩数/看護職員数比が 20 以上と分娩数が当該職員数に比べて多い施設であった。さらに分娩後母子異室の時期のある施設では発症が短期に集中することがあり、混合病棟の解消と母子同室の推進を平行して行うことが重要であり、両者共に病院機能評価の対象項目とすることが、今後の問題点の解消方法として妥当であると考えられた。

#### i. 薬剤耐性菌情報等に関する情報伝達・解析システムの改良・強化 (藤本修平)

感染対策の自動化・電子化による効率化・高精度化によって限られた資源を活用し国民の安全を守ることを獲得目標に研究を行った。(I) 標準化、(II) 解析自動化、(III) 普及の方法論の研究を行った。標準化においては、新規標準の開発 (JANIS 検査部門報告の CDA (clinical document architecture) 化、問題となる菌定義標準フォーマット、菌の分離率の標準フォーマット)、標準の公開 (JANIS 検査部門フォーマット、コード関連 OID 公開)、標準の普及 (JANIS 検査部門コードの IHE-J での利用) を行った。解析自動化では、菌の異常集積自動検出アルゴリズムの有用性の検証、菌の異常集積警告スコア累積の算出法の開発と実装、antibiogram の自動分類と 2 次元カラーキャリアマップの開発と実装、拡散の危険の高い耐性菌の自動検出アルゴリズムの開発、警告スコア累積による問題菌の抽出と感染の要素に関する菌の特徴の結合による感染対策の問題点の自動指摘アルゴリズムの提案を行った。普及の方法論においては、1) 高精度の感染対策が業務になっていないこと、2) 感染症のリスク (事故、インシデント、ヒヤリハットなど) を正しく評価するための客観的なデータが不十分なため、感染症による逸失利益の算出をおこなうことが出来ず損益分岐点が算出困難なこと、3) 高精度の感染対策によって感染症のリスクを正しく評価することができるが、高精度の感染対策を実施するためには適切な損益分岐点の算出が必要なが分かった。この構造は、「高精度の感染対策を行わないと感染対策の問題点にさえ気づかない。」と言う原理に基づいていることが分かった。

#### j. 検査部のデータを活用した耐性菌サーベイランスの検討 (松本 哲哉)

本研究班では、厚生労働科学研究費補助金 (医療技術評価総合研究事業) 「院内感染の防止のための監視体制の整備、細菌検査室の機能向上に関する研究」(班長:東邦大学 山口恵三) において 3 年間の研究で得られた成果である標準感染監視システム (SHIPL) を、さらに改良を加えてより有効なプログラムに改訂するための検証を行うとともに、多施設における感染症コントロールの実現に向けて東京

医科大学と3つの関連施設を結ぶ専用のネットワークを構築し、その活用を目指した検討を目的としている。

平成18年度に関連各施設に SHIPL を導入し、平成19年度は施設間のネットワークを活用して、本システムの検証を行った。さらに平成20年度は SHIPL の付加価値を高めることを目的として2次元キャリアマップを導入し、見かけ上、分離菌数は増えない状況においても、特定の菌株が一部の部署で広がっている潜在的院内伝播の状況の把握が可能であることを明らかにした。

さらに地域における感染症のコントロールを目指して、医療施設間のネットワークをより緊密にするために、東京医科大学病院、慶応義塾大学医学部付属病院、および東京女子医科大学病院の3病院が連携し、「新都心感染症研究会」を設立し、講演会を中心に地域連携を深める活動を行った。

#### k. 臨床分離株の薬剤感受性成績調査および薬剤感受性検査の変動因子と精度管理に関する研究

(小崎 繁昭)

平成19年、20年の JANIS 検査部門データ集計し、平成9年からの11年間の薬剤耐性率の変動についてあきらかにした。平成18年までは協力施設からの収集データを集計し、平成19年、20年は JANIS 検査部門データを集計したが、両者の薬剤耐性率に大きな差は認められず継続性があると判断した。しかし、以前から問題とされていた測定機種等の集計単位による薬剤耐性率の差は JANIS 検査部門データの集計でも認められ、外部精度管理以外に、日常検査データを利用した微生物検査の精度管理方法の確立が望まれる。細菌性髄膜炎起因菌の調査では、菌種別分離頻度は *H. influenzae* と *S. pneumoniae* で、全分離菌株の80%以上を占めており集計年による差は認められなかった。今後は他の材料等についても詳細な集計解析を行い、有用な情報として臨床へ発信することが必要である。

#### 1. NICUにおける院内感染のリスク評価(畝 博)

出生時体重別・CVC使用有無別に全体の院内感染率および血流感染率をみた場合、出生時体重が低い程、また、CVCを使用している者程感染のリスクが高かった。すなわち、全体の院内感染率では1,501g以上・CVC(-)群で2.5%であったものが、1,000g以下・CVC(+)群では29.0%の高率になった。また、血流感染率でも同様に1,501g以上・CVC(-)群で0.3%であったものが、1,000g以下・CVC(+)群で12.8%に上昇していた。

中心静脈および臍帯カテーテル使用1,000日当たりの血流感染率はNNISの平均値より低かった。NICU感染症サーベイランスのデータを用いて、入院患児7,958人を分析対象としてNICUにおける肺炎感染とVentilator使用との関係について検討した。出生時体重別・Ventilator使用有無別に肺炎感染率

をみると、出生時体重が低い程、また、Ventilatorを使用している者程感染のリスクが高い傾向が認められた。

Ventilator使用期間別にみた肺炎感染のリスクを多変量解析により検討した結果、Ventilatorの使用期間が30日未満では肺炎感染のリスクの上昇は認められなかったが、Ventilatorの使用期間が30日以上になると、肺炎感染のリスクは急上昇した。これは、Ventilatorの使用期間が30日以上になると、再挿管を行うケースが多く、再挿管の操作が感染のリスクを増加させるためと考えられた。

#### m. 集中治療室(ICU)の院内感染率の比較検討(吉田勝美)

従来の報告にある内部要因と外部要因にくわえ、患者を取り巻く環境として同室の感染患者の存在もまた感染の発生に影響しうると考えられる。本研究では、集中治療室(ICU)内感染環境として(1)各日あたりの在室患者の感染状況、(2)感染直前の同室患者の感染状況を調べた。感染患者がゼロである日数は最多の施設でも30.9%であり、10%以下という施設もみられた。ICU内感染前2日間に感染患者が同室していた割合は最少の施設でも68.9%であり、90%以上という施設もみられた。ICUは日常的に感染患者が在室している状況であり、二次感染防止策の重要性が再認識された。

複数のICUの感染率を比較するうえでリスク調整は欠かせないが、毎日のデバイス装着状況の調査は現場のスタッフの負担になる。本研究では、標本期間のデバイス使用比をもとにデバイス装着日数を推計する方法を応用して、各施設・月のリスク調整感染率を推計できるか検討した。デバイス装着日数の推計値とリスク調整感染率の推計値はいずれも実測値との有意な相関( $p<0.001$ )をみとめ、標本期間を初7日の7日間とした場合の相関係数は0.9以上と0.8以上で最大であった。実測値からの乖離が大きい施設・月を減らし、推計の精度を向上するために、サンプリングの方法の工夫が今後の課題である。

#### 2. 薬剤耐性菌基礎研究グループの研究成果

##### a. 新型薬剤耐性菌に関する研究(荒川 宜親)

研究代表者である荒川の研究グループでは、汎アミノ配糖体耐性に関与するプラスミド媒介性の16S rRNAメチレーズ(RmtC, NpmA)、プラスミド媒介性のフルオロキノロン排出ポンプ(QepA)およびその産生菌の調査、アシネトバクター属菌における消毒薬抵抗性の解析、韓国や中国における薬剤耐性菌研究の支援、セフトラキシム/セフトリアキソン耐性大腸菌の急増の背景に関する分子疫学解析、セフトリジウム耐性にも関与する新型CTX-M-64の発見と解析、ペニシリン/セファロスポリンに抵抗性や耐性を獲得したB群連鎖球菌の解析などを行



なった。

b. バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)に関する研究  
(池 康嘉先生)

日本で臨床分離された VRE の VanA 型トランスポゾン Tn1546 (VanA)の構造解析により、トリ VRE の人への伝播が示唆された。1999 年日本で最初のバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) による院内感染例より分離された VanB 型 *E. faecalis* 菌 19 株についてプラスミドを詳しく解析した。台湾の家畜から分離された VRE 30 株、患者分離 VRE 40 株の解析の結果から、家畜由来の VRE が人に定着し得ることが示唆された。

c. マクロライド耐性肺炎球菌の解析 (山本 友子)

臨床より分離された肺炎球菌におけるエリスロマイシン、テリスロマイシン (TEL) 低感受性株の頻度や、その分子機構(23SrRNA の変異、*ermB* と *mefA/E* 遺伝子の獲得など)について解析を行なった。また、外来性因子 *mefE* と *ermB* の欠損株を構築して、TEL 低感受性化への貢献度を検討したところ、*mefE* と *ermB* を両方獲得することにより TEL 低感受性化すると結論付けられた。*mefE* と *ermB* 獲得の遺伝学的背景を明らかにするため、Transposon の存在を検討した。その結果 *ermB*、*mefF*、*tet* をコードする Tn2010-like structure が見出されたことから、3 株の TEL 低感受性菌は Tn2010 の転移により出現したと考えられた。

d. 多剤耐性菌において重複変異をもたらす機構の解析 (H18-19; 後藤直正)

カルバペネム、キノロンおよびアミノグリコシドに同時耐性を示す多剤耐性緑膿菌 (MDRP) において染色体性耐性遺伝子の重複変異をもたらす機構を明らかにする事を目的として研究を行った結果、MDRP の 4 つのクラスターと変異修復系遺伝子群クラスターとが一致したことから、MDRP の発生が特定の変異を有する修復系遺伝子に起因することが示唆された。また、MDRP クラスターの耐性機構の相異について解析した結果、MDRP は複数の異なる発生系統に分類されることが示唆された。

e. 新型の薬剤耐性菌の耐性機構・立体構造の物理化学的解析とその耐性機能ならびに立体構造に基づいた検出剤の分子設計 (黒崎 博雅)

16S rRNA メチレーズである RmtB やメタロ-β-ラクタマーゼ(IMP-1)、セリン型β-ラクタマーゼである GES-3 などの薬剤耐性に関する酵素分子の大量発現系の構築と精製法を確立しそれらの蛋白分子の結晶化に成功した。蛋白結晶の X 線解析により得られたデータに基づき、各々の酵素分子の原子座標を計算することで分子構造を推定し、各々の酵素分子が酵素活性を示す機構について解析を行なうとともに、それらの情報に基づき酵素分子の阻害物

質や蛍光による検出法の検討を行なった。

f. 高度多剤耐性緑膿菌の院内感染対策に関する研究 (切替 照雄)

全国の主要な基幹病院を対象に、MDRP の分離状況等に関する調査を実施した結果、全国のほとんどの医療施設で多剤耐性分離株が新興し始めていることが明らかになった。分子疫学解析と追加のアンケート調査及び迅速診断法の開発により、過去に宮城県で流行した高度多剤耐性緑膿菌クローン、IMCJ2 型多剤耐性緑膿菌が、東京都、茨城県、千葉県、神奈川県、広島県で分離されることを見出した。また、本研究から新たに IMCJ2 型の亜型を見出した。さらに、高度多剤耐性緑膿菌流行株を同定するための迅速簡便診断法を開発し、LAMP 法や凝集ビーズ法、イムノクロマト法の開発を行い、その評価試験を実施した。

g. 地方衛生研究所における薬剤耐性菌等に関する細菌学的、疫学的調査解析機能の強化に関する研究 (倉田 毅)

地方衛生研究所において感染症法で保健所を通じて届け出ることが定められている薬剤耐性菌などの検査や解析技術の実際や細菌検査担当者の要望などを把握するため、地衛研 76 施設を対象にアンケート調査を行なった。その結果、耐性菌の遺伝子学的解析について、マニュアルの整備と結果の解釈に関する研究会や支援が必要であることが判明した。

その結果を踏まえ、平成 20 年度には、薬剤耐性菌に関する現状や解析を行なう際の要点などを総括的に理解する研修会の実施と資料集を発行し、以下のホームページを通じて全国の地方衛生研究所に公開した。

<<http://www.nih.go.jp/niid/bac2/drugresist/index.html>>

h. 血清型 6B、6A 及び 19F 肺炎球菌の MLST と薬剤感受性の関連 (和田 昭仁)

ペニシリン耐性株や多剤耐性株の出現が問題となっている肺炎球菌による劇症型感染症例の菌側の要因の解析とともに、高齢者施設等で問題となる CPE 産生性 *C. perfringens* の解析、さらに、ペニシリン耐性が問題となっている血清型 6B、19F 肺炎球菌のシーケンスタイプ解析をおこない、各々の血清型において、特定のシーケンスタイプに属する株がペニシリン耐性を獲得しやすいうことを明らかにした。

i. クラス D に属するβ-ラクタマーゼの検出法確立に関する基礎的検討 (山口 恵三)

クラス D に属するβ-ラクタマーゼ(OXA-型)は 7 種類以上の異なるグループから構成される酵素群であるが、近年、第三世代セファロスポリンあるいはカルバペネム系薬分解能を有する酵素 (OXA-23, OXA-24, OXA-51, OXA-58 など) が *Acinetobacter* 属菌等で出現しつつあるため、特異的阻害剤について

の検討や阻害剤を用いての OXA-型  $\beta$ -ラクタマーゼの検出法の検討、さらに OXA-23 および OXA-40 を認識する抗血清を作成し、ポリクローナル抗体 (IgG) を精製して、OXA-23 および OXA-40 に対するウエスタンブロッティング法、ELISA 法およびイムノクロマト法による検出系を確立した。また、OXA-51 および OXA-58 の大量発現系の構築および酵素標品の取得に成功し特異的抗血清の作成を試みている。

j. VRE の地域における感染制御～*E. gallinarum*/*E. casseliflavus*+*vanA/B* の解析 (一山 智)

京都市内の一施設における VRE の大規模アウトブレイクをきっかけとして、2005 年より地域での VRE の調査とともに感染対策を実践し、2006 年度調査で検出施設数の増加が明らかとなったため、2007 年度当初より、京都 VRE 対策指針に基づきアクティブサーベイランスの実施や保菌情報の共有などの対策の強化をはかった結果、2008 年度実施した全施設サーベイランスでは、VRE 検出施設数は減少傾向となり、地域での感染予防策が一定の効果を示したものと考えられた。最終年度は *vanA/E. gallinarum* の解析をさらに進め、当初京都地区で流行した *vanA/E. faecium* のプラスミド上の耐性遺伝子が、*E. gallinarum* のゲノム上へ伝播し耐性化したものと考えられた。*E. faecium* および *E. faecalis* によるアウトブレイク発生時には、通常は感受性検査の対象とならない *E. gallinarum*/*E. casseliflavus* についても、耐性獲得の可能性を考慮し、随時感受性試験を実施することが重要であることが示唆された。

#### 4. 抗酸菌研究グループの研究成果

a. 非結核性抗酸菌の薬剤耐性に関する研究

(柴山恵吾)

非結核性抗酸菌が各種薬剤に耐性を示すことが多く、薬剤排出に関与すると考えられる遺伝子が、ゲノム上に MFS に属するものが 14 種類、RND に属するものが 20 種類、ABC に属するものが 9 種類あり、MFS に属するもので 5 種類について欠損株の作製を行うとともに、*M. smegmatis* を用いてそれらの蛋白の機能を  $^3\text{H}$  ラベル Clarithromycin (CAM) およびプロトンポンプ阻害剤の CCCP を用いた実験により解析した結果、*M. avium* は、複数の抗菌薬に対し排出活性を示すことが確認された。また、これらの解析の中で、臨床分離 *M. avium* 株において薬剤排出蛋白をコードする遺伝子の近位に新しい Insertion Sequence (IS) を見出した。この IS は *M. smegmatis* で報告されている IS1549 と高い相同性を示すため新しい Insertion Sequence、IS1642 と命名した。この IS はゲノム上に複数コピー存在し、IS に隣接する Direct repeat 配列は一般的な IS のものと大きく異なり、非常に長くまたその長さも様々であった。また、この IS は比較的頻繁にゲノム上で転移するため、

分離菌株が同一クローンかどうかの見分け等高い分離能が必要とされる分子疫学解析に用いる事が出来ると思われた。

b. 多剤耐性抗酸菌感染症の治療法の確立の基礎研究 (牧野 正彦)

マクロファージの一酸化窒素 (NO) 産生は、CD4+ T 細胞が産生する IFN-g、TNF- $\alpha$  や、CD40 リガンド-CD40 を介したマクロファージ-CD4+ T 細胞間相互作用によって調節されていると考えられている。また、結核菌は細胞表面上の TLR を介してマクロファージを活性化する。そこで、マクロファージの NO 産生におけるマクロファージ-CD4+ T 細胞間相互作用及び Toll-like Receptor (TLR) による BCG 認識の役割を高純度精製脾臓マクロファージを用いた *in vitro* 実験系にて検討した。

その結果、

- ① マクロファージ単独に BCG を感染させても BCG の排除に十分な NO 産生は誘導されない。
  - ② BCG 感染マクロファージに IFN-g を作用させても NO 産生は増強されない。
  - ③ BCG 感染マクロファージを CD40 リガンドで刺激しても NO 産生は増強されない。
  - ④ BCG 感染マクロファージは CD40 リガンド-CD40 相互作用以外の CD4+ T 細胞との相互作用で BCG 排除に十分な NO を産生する。
  - ⑤ CD4+ T 細胞が産生する GM-CSF は CD4+ T 細胞との相互作用で増強された BCG 感染マクロファージの NO 産生を抑制する。
  - ⑥ M-CSF は CD4+ T 細胞との相互作用で増強された BCG 感染マクロファージの NO 産生をさらに増強する。
- などを明らかにした。

以上の結果より、BCG の持つ特性によって誘導される Th1 分化がマクロファージの NO 産生を減弱し、BCG の生存を助長している可能性、M-CSF が結核感染の治療に有効なサイトカインである可能性が示唆された。

c. 市中病院における多剤耐性結核患者管理体制の確立 (一山 智)

結核感染の診断には従来ツベルクリン反応が用いられてきたが、免疫不全患者での陽性率の低さや BCG 接種患者における偽陽性など、わが国においては結核感染の診断はツ反では困難であった。QFT-2G (クオンティフェロン 2G、以下 QFT) は、結核特異抗原をリンパ球に反応させ結核を判定する新しい検査法であるが、結核ハイリスク群である免疫抗膠原病患者における有用性を検討した。全 298 名中 23 例 (7.7%) が判定不可と判定された。このうち、SLE 患者が 17 例を占め、SLE 患者においては 17/63 (27.0%) で判定不可となった。判定不可例の臨床背景の解析を行ったところ、判定不可例では、判定可能例と比較して末梢血リンパ球数が

有意に低値であり、SLE の活動性指標 (SLEDAI) が有意に高かった。ツ反は判定した全例 (14 例) すべて陰性であった。結核発病患者での評価では、7 例中 5 例で QFT が陽性 (71.4%) となり、うち 2 例では QFT は結核症の早期発見に有用であった。以上より免疫抑制薬を投与されている膠原病患者においても QFT はツ反と比較して結核感染および発病の診断において有用であると考えられたが、活動性の高い SLE 患者では、活動性の低下をまって判定する必要があると考えられた。

d. 非結核性抗酸菌症、特に *Mycobacterium avium* 症における薬剤耐性機序に関する研究

(松本 智成)

結核症と異なり *Mycobacterium (M.) avium* 症は、有効な治療法がない。VNTR パターン解析法を用いて、別の患者や分離時期、分離地域が異なる *M. avium* 株の遺伝的な関連性などを解析した。その結果、Virginie 等の VNTR と西森等の VNTR の領域を組み合わせる事により解像度が上昇が認められることが確認された。

また、系統樹解析により、VNTR において同一パターンを示す菌株が関西地域で広く分離される傾向があり、しかも VNTR にて近縁の集団が 2 系統あることが示唆された。また、居住歴が異なり接触歴も無いが同一の VNTR パターンを示す菌株があり、そのタイプの型による発症事例では死亡率も高かったことから、菌の遺伝子型と病原性との間に何らかの関連性が示唆された。なお、VNTR と HPLC によるミコール酸のタイピングならびに血清型別を比較したが関連性は認められなかった。

e. *Mycobacterium avium* complex(MAC)特異的糖蛋白質抗原を用いた喀痰培養陰性 (気管支内視鏡的) 肺 MAC 感染症の血清診断 (小林和夫)

*Mycobacterium avium* complex (MAC) 感染症の血清診断に關し、試作キット (TAUNS Laboratory、静岡) を作成し、有用性を多施設 (独立行政法人国立病院機構刀根山病院、近畿中央胸部疾患センター、京都大学医学部附属病院、地方独立行政法人大阪府立病院機構大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター、学校法人自治医科大学埼玉医療センター、医療法人篤友会坂本病院) で、肺 MAC 感染症、無症候性 MAC 感染症、肺結核、その他の肺疾患 (慢性閉塞性肺疾患、特発性間質性肺炎、肺癌、細菌性肺炎、肺サルコイドーシス、気管支拡張症)、健康者を対象疾患として評価した。肺 MAC 感染症において血清抗 GPL 核抗体を検出する試作キットは感度: 84.3%、特異度: 100% を示した。病型では、「結節/気管支拡張型」>「線維空洞型」であり、かつ、赤沈値や病変の広がり抗体価は正相関を示した。喀痰培養陰性 (気管支内視鏡的) 肺 MAC 感染症において血清抗 GPL 核 IgA 抗体を検出する試作診断キットの血清診断は診断感度: 73.6%、特異度: 96.5%

であった。MAC 感染症の血清診断試作キットは 1) 迅速診断 (所要: 約 3 時間)、2) 鑑別診断や 3) 活動性の評価に有用である。加えて、血清診断は体外診断のため、非侵襲性、安全である。

f. 新たな小児のツベルクリン反応陽性基準作成 (近藤信哉)

小児におけるツベルクリン反応検査の基準値を検討した。その結果、1) 4 歳未満 375 名においてツ反硬結反応 5 mm がカット・オフ値と考えられ、2) 4 歳以上 311 名においてもツ反硬結反応 5 mm がカット・オフ値と考えられた。

そこで、ツ反陽性カット・オフ値を硬結 5 mm とした場合、ツ反判定の感度と特異度を求めた。まず、結核発病小児 275 名の診療録を調べて得たツ反硬結値の分布を検討し、陽性カット・オフ値を硬結 5 mm とした場合の判定の感度を求めた。275 名中 14 名においてツ反硬結は BCG 接種の有無にかかわらず 0 mm であった。他の 261 名のツ反硬結は正規分布類似の分布をした。両者には分離が認められ、カット・オフ値を硬結 5 mm とした場合の判定の感度は 95% であった。次いで、0 歳時に BCG 接種目的でツ反検査を受けた 84 名の児の母子手帳からツ反反応径を得て特異度を求めた。発赤か硬結かは不明であるが、ツ反判定値は 84 名中 83 名において 5 mm 未満であった。数字を硬結としても、カット・オフ値を硬結 5 mm とした場合の判定の特異度は 99% であった。これ等の結果から、硬結 5 mm が BCG 接種の有無にかかわらず、小児におけるツ反陽性判定のカット・オフ値であることが示唆された。

D. 考 察

1. JANIS 事業の一層の充実と強化の必要性

先日、福岡県内の特定機能病院で、多剤耐性を獲得したアシネトバクターが、複数の患者から分離され、一部は死亡との関連性が検討されている。類似の事態が発生している医療機関が他にも存在しているという情報も把握されており、このように、すでに国内外の医療現場で無視できない問題となっている、MRSA や VRE などのグラム陽性菌の多剤耐性菌に加え、緑膿菌やアシネトバクターなどのグラム陰性桿菌における多剤耐性株の出現と蔓延が、医療現場で現実的な脅威となっており、さらに、大腸菌や肺炎桿菌などの腸内細菌科の菌種においてもセフトキサシム/セフトリアキソン耐性株、フルオロキノロン耐性株の増加が国内外の医療機関で顕著になっている。薬剤耐性菌による感染や感染症を未然に防ぐためには、それらの日常的な監視が不可欠であり、個々の医療機関における日常的な施設内サーベイランスの実施とそれに基づいた実効ある対策が不可欠であることは言うまでもないが、個々の医療機関が、自施設における各種の薬剤耐性菌やそれらによる感染症の発生状況を相対的、客観的に自覚し評

価することができる指標が必要であり、平成 12 年度から開始された、厚生労働省「院内感染対策サーベイランス(JANIS)事業」は、その目的に合致しており、一層の充実と強化・発展が強く期待されている。

## 2. JANIS 事業データの自治体との共有と活用

現在、JANIS 事業に参加を希望する医療機関は、厚生労働省が定期的に参加施設の募集をする際に、都道府県を通じて応募することになっている。しかし、その後は、自治体を離れ、参加施設はデータを直接厚生労働省に提出し、集計解析結果は、専用のホームページを通じて参加医療施設に個別に返されるとともに、その概要が一般公開されている。万一、特定の医療機関で院内感染症のアウトブレイクが疑われる事態が発生した場合、自治体の衛生主管部局は、近隣の医療機関における状況を参考情報として必要とする場合などもあり、その際に、JANIS 事業データが重要となる場合も多いと考えられる。そこで、今後の JANIS 事業の改善の際には、地方自治体の衛生主管部局も JANIS 事業データを共有できるシステムの構築も視野に入れて検討を進める必要がある。

## 3. VRE の地域的な蔓延に対する対策の必要性

VRE については、国内では未だ散発的に検出されるのが実態であるが、既に、北部九州地域、京都地域、埼玉県などで、幾つかの医療機関において大規模なアウトブレイクが発生している。これらの地域では、医療機関の間を患者が転医するのに伴って VRE の施設間伝播が発生している可能性が高いが、現状では、入院時の耐性菌のスクリーニング検査は保険適用となっていないため、適切に培養検査が行えず、水際で必要な対策を実施する機会を逃し、それが特定の薬剤耐性菌の医療施設間拡散の原因の一つとなっていることが指摘されている。したがって、VRE や MDRP を含む多剤耐性菌のこれ以上の伝播拡散を防ぐため、保険により入院時に特定の多剤耐性菌の検査が実施可能のように配慮するとともに、患者を他の医療機関に紹介する際には、紹介状に特定の薬剤耐性菌の保菌状況や抗菌薬の投薬歴などについて記載をすることを推奨する必要がある。

## 4. 新型薬剤耐性菌に関する監視と研究の強化

主任研究者である荒川の研究グループでは、これまで、汎アミノ配糖体超高度耐性に関与する 16S rRNA メチレーズやフルオロキノロンの排出に関与する QepA を世界に先駆けて発見し、注意を喚起して来た。また、第三世代セファロスポリン耐性を獲得した大腸菌や赤痢菌に関し研究を行ない、最近、国内で第三世代セファロスポリン耐性を示す大腸菌が急激に増加している背景とともに、海外旅行から帰国した下痢症患者より分離した赤痢菌が保有する

新型の CTX-M-型  $\beta$ -ラクタマーゼ (CTX-M-64) を発見した。さらに、これまでペニシリンに対しては、一律感受性を示し、耐性株は存在しないと考えられて来た、B 群連鎖球菌においても、近年、ペニシリンに抵抗性を獲得した株が出現し、それらを詳しく解析した結果、ペニシリンの標的分子の一つである PBP2X に変異を獲得した株であることが明らかとなった。このように、MRSA や VRE 以外にも、次々と新しい分子機構を獲得した薬剤耐性菌が医療現場で出現しつつあり、それらに関する分詞、遺伝子レベルでの基礎的な研究の推進と強化が急務となっている。

## 5. 地方衛生研究所における耐性菌解析能力の向上

医療法およびその施行規則が平成 19 年に改正され、病院長など医療機関の管理者に、院内感染対策の充実が法的に義務付けられた。その結果、医療機関内で VRE や多剤耐性緑膿菌など特定の薬剤耐性菌が複数の患者から分離されるなど、院内感染の発生が疑われたり、それらによる感染症の患者が発生した場合、医療機関は、適宜、保健所に届け出たり相談することが必要となる。その際、複数の患者から分離された特定の薬剤耐性菌が、院内で伝播拡散したのか否かを確認する検査や解析は、試験結果の客観性を確保するため、自治体の行政試験研究機関である地方衛生研究所が担当することが多い。しかし、薬剤耐性菌の種類は非常に多様であり、また薬剤耐性に関与する遺伝子も多種類存在するため、現状では、多くの地方衛生研究所は、十分な対応が困難な状況となっている。そこで、改正された医療法などの趣旨を実現し、医療機関内で発生する感染症を低減化させるためには、アウトブレイク発生時などに適切に対応できるよう、地方衛生研究所における薬剤耐性菌の試験や解析に関する知識や技術の向上を図る必要があり、国や自治体には、必要な講義や技術研修を充実することが求められている。

## 6. 地方自治体職員を対象としたアウトブレイク対応マニュアルの必要性

医療機関より感染症などの発生についての報告や相談を受けつける保健所など自治体の窓口の担当職員は、必ずしも薬剤耐性菌や感染症について十分な知識を有しているとは限らず、対応に手間取ったり適切な対応ができなかったりする事例もある。そこで、地方自治体の職員が医療機関内で感染症のアウトブレイクが発生した際に適切に対応できるよう、対応する手順や要点を整理した「マニュアル」の作成が重要となっており、その整備が今後の課題となっている。

## 7. 畜水産品における薬剤耐性菌汚染状況の監視体制強化の必要性

畜水産現場における抗菌薬の使用による薬剤耐性

菌の出現し、それらが畜水産物を介して人へ伝播することが懸念されている。既に、VRE やフルオロキノロン耐性カンピロバクター、多剤耐性サルモネラ DT104 などは、畜産現場で発生し、食品等を介して人に伝播した可能性が指摘されている。さらに、近年、人の臨床現場で最近、急激に増加しつつあるセフトキサシム/セフトリアキソン耐性大腸菌などに見られるように弱毒性の菌種が、国内のみならず中国など海外のブタや鶏からも多数分離されているという報告が増加している。これらの家畜由来耐性株は、家畜用の第三世代セファロスポリンであるセフトオフルに耐性を獲得しており、それらは人の臨床材料から分離される CTX-M-型  $\beta$ -ラクタマーゼと同等な酵素を産生していることが確認されている。さらに、畜産環境での抗菌薬の使用がプラスミド媒介性の 16S rRNA メチレーゼ産生菌やフルオロキノロン排出ポンプ (QepA) 産生菌の出現と拡散に関与していることが中国などでのブタ由来大腸菌の調査研究により示唆されている。したがって、畜水産物等の食品を介して各種の新型薬剤耐性菌が人の腸内に侵入、定着し、それが二次的に、医療環境へ影響を及ぼしている可能性があるため、海外から輸入されている畜水産物においては、サルモネラやカンピロバクター、病原性大腸菌などの強毒性の指標菌のみならず、医療機関内で日和見感染症や術後感染症、院内感染症の起原菌としてしばしば問題となる大腸菌や肺炎桿菌などの弱毒性の菌種における薬剤耐性菌の汚染状況の調査や監視体制の整備と強化が必要となっている。

#### F. 健康危険情報

本研究班により、これまで、ペニシリンに対し一律感性和と考えられて来た B 群連鎖球菌(GBS)においてペニシリンに低感受性を獲得した株が我が国の医療現場で出現したことが世界で最初に確認された。今後、新生児の敗血症や髄膜炎の起原菌として分離される GBS におけるペニシリンや経口セファロスポリンに対する耐性動向の監視を強化する必要がある。

VRE については、京都など特定の地域において検出率が高くなっており、感染症法のみならず、医療法の観点からも VRE の地域的な蔓延や施設間の伝播拡散を防止するため、当該地方自治体は、地域の基幹病院や専門家とも連携し、実効ある積極的な調査と対策を実施すること急務となっている。

また、OXA-型  $\beta$ -ラクタマーゼ (カルバペネム系) を産生し、カルバペネム系、フルオロキノロン系、アミノ配糖体系の 3 系統全ての抗菌薬に多剤耐性を獲得した *Acinetobacter* 属菌が、海外 (韓国を含む) で増加し問題となっているが、この種の多剤耐性菌が、最近、国内の複数の医療機関でも散発的に分離されるようになり、一部では、複数の患者より検出され、院内感染の発生が疑われる事例も発生

しているため、VRE や多剤耐性緑膿菌(MDRP)とともに、今後、臨床現場でその動向を監視して行く必要がある。

#### G. 研究発表 (研究代表者関連分のみ)

1. Tanimoto K, Nomura T, Maruyama H, Tomita H, Shibata N, Arakawa Y, Ike Y. First VanD-Type vancomycin-resistant *Enterococcus raffinosus* isolate. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006 Nov;50(11):3966-7.
2. Wachino J, Yamane K, Kimura K, Shibata N, Suzuki S, Ike Y, Arakawa Y. Mode of transposition and expression of 16S rRNA methyltransferase gene *rmtC* accompanied by *ISEcp1*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006 Sep;50(9):3212-5.
3. Park YJ, Lee S, Yu JK, Woo GJ, Lee K, Arakawa Y. Co-production of 16S rRNA methylases and extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in AmpC-producing *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii* and *Serratia marcescens* in Korea. *J Antimicrob Chemother*. 2006 Oct;58(4):907-8.
4. Lee H, Yong D, Yum JH, Roh KH, Lee K, Yamane K, Arakawa Y, Chong Y. Dissemination of 16S rRNA methylase-mediated highly amikacin-resistant isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* in Korea. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2006 Nov;56(3):305-12.
5. Kawamura-Sato K, Wachino J, Kondo T, Ito H, Arakawa Y. Reduction of disinfectant bactericidal activities in clinically isolated *Acinetobacter* species in the presence of organic material. *J Antimicrob Chemother*. 61:568-76, 2008.
6. Wachino J, Shibayama K, Kurokawa H, Kimura K, Yamane K, Suzuki S, Shibata N, Ike Y, Arakawa Y. Plasmid-mediated novel m1A1408 methyltransferase, NpmA, for 16S rRNA found in clinically isolated *Escherichia coli* resistant to structurally diverse aminoglycosides. *Antimicrob Agents Chemother*. 51:4401-9, 2007.
7. Doi Y, Arakawa Y. 16S ribosomal RNA methylation: emerging resistance mechanism against aminoglycosides. *Clin Infect Dis*. 45:88-94, 2007. (Review article)
8. 10. Yamane K, Wachino J, Suzuki S, Shibata N, Kato H, Shibayama K, Kimura K, Kai K, Ishikawa S, Ozawa Y, Konda T, Arakawa Y. 16S rRNA methylase-producing, gram-negative pathogens, Japan. *Emerg Infect Dis*. 13:642-6, 2007.
9. Yamane K, Wachino J, Suzuki S, Kimura K, Shibata N, Kato H, Shibayama K, Konda T, Arakawa Y. New plasmid-mediated fluoroquinolone efflux pump, QepA, found in an *Escherichia coli* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother*. 51:3354-60, 2007.
10. Nagano Y, Nagano N, Wachino J, Ishikawa K, Arakawa Y. Novel chimeric  $\beta$ -lactamase CTX-M-64, a hybrid of CTX-M-15-like and CTX-M-14  $\beta$ -lactamases, found in a *Shigella sonnei* strain resistant to various oxyimino-cephalosporins, including ceftazidime. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009

Jan;53(1):69-74.

11. Suzuki S, Shibata N, Yamane K, Wachino J, Ito K, Arakawa Y. Change in the prevalence of extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* in Japan by clonal spread, *J Antimicrob Chemother*, 2009 Jan;63(1):72-9.
12. Nagano N, Nagano Y, Kimura K, Tamai K, Yanagisawa H, Arakawa Y. Genetic heterogeneity in *pbp* genes among clinically isolated group B streptococci with reduced penicillin susceptibility, *Antimicrob Agents Chemother*, 2008 Dec;52(12):4258-67.
13. Kimura K, Suzuki S, Wachino J, Kurokawa H, Yamane K, Shibata N, Nagano N, Kato H, Shibayama K, Arakawa Y. First molecular characterization of group B streptococci with reduced penicillin susceptibility, *Antimicrob Agents Chemother*, 2008 Aug;52(8):2890-7.
14. Liu JH, Deng YT, Zeng ZL, Gao JH, Chen L, Arakawa Y, Chen ZL. Coprevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants *QepA*, *Qnr*, and *AAC(6)-Ib-cr* among 16S rRNA methylase *RmtB*-producing *Escherichia coli* isolates from pigs, *Antimicrob Agents Chemother*, 2008 Aug;52(8):2992-3.
15. Doi Y, Wachino J, Arakawa Y. Nomenclature of plasmid-mediated 16S rRNA methylases responsible for panaminoglycoside resistance, *Antimicrob Agents Chemother*, 2008 Jun;52(6):2287-8.
16. Yamane K, Wachino J, Suzuki S, Arakawa Y. Plasmid-mediated *qepA* gene among *Escherichia coli*

clinical isolates from Japan, *Antimicrob Agents Chemother*, 2008 Apr;52(4):1564-6.

#### H. 知的所有権の取得状況（主任研究者関連分のみ）

1. ペニシリン耐性 B 群連鎖球菌（Group B streptococci）識別する方法及び識別用キット（特願 2006-190059）  
木村幸司、黒川博史、荒川宜親
2. 新規キノロン系抗菌薬排出ポンプ（特願 2006-187660）  
山根一和、荒川宜親
3. 新規な 16S rRNA メチラーゼ遺伝子、該遺伝子から産生されるタンパク質、および、それらの検査方法（特願 2006-245775）  
和知野純一、荒川宜親
4. 新規な 16S rRNA メチラーゼ遺伝子、該遺伝子から産生されるタンパク質、および、それらを用いた該遺伝子またはそれによって産生された 16S rRNA メチラーゼの検出方法（特願 2005-255755）  
(PCT/JP 2006/317439)  
(WO 2007/026926)  
和知野純一、荒川宜親

Ⅱ. 研究成果の刊行に関する一覧表  
(平成18～20年度)

研究成果の刊行に関する一覧表(1)

著者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Suzuki S, Shibata N, Yamane K, Wachino J, Ito K, Arakawa Y	Change in the prevalence of extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing <i>Escherichia coli</i> in Japan by clonal spread	Journal of Antimicrobial Chemotherapy	63	72-79	2009
Kimura K, Suzuki, S, Wachino J, Kurokawa H, Yamane K, Shibata N, Nagano N, Kato H, Shibayama K, Arakawa Y	First Molecular Characterization of Group B Streptococci with Reduced Penicillin Susceptibility	Antimicrobial Agents and Chemother.	52(8)	2890-2897	2008
Doi Y, Wachino J, Arakawa Y	Nomenclature of Plasmid-Mediated 16S rRNA Methylases Responsible for Panaminoglycoside Resistance	Antimicrobial Agents and Chemother.	52(6)	2287-2288	2008
Nagano N, Nagano Y, Kimura K, Tamai K, Yanagisawa H, Arakawa Y	Genetic Heterogeneity in <i>pbp</i> Genes among Clinically Isolated Group B Streptococci with Reduced Penicillin Susceptibility	Antimicrobial Agents and Chemother.	52(12)	4258-4267	2008
Nagano Y, Nagano N, Wachino J, Ishikawa K, Arakawa Y	Novel Chimeric $\beta$ -Lactamase CTX-M-64, a Hybrid of CTX-M-15-Like and CTX-M-14 $\beta$ -Lactamases, Found in a <i>Shigella sonnei</i> Strain Resistant to Various Oxyimino-Cephalosporins, Including Ceftazidime	Antimicrobial Agents and Chemother.	53(1)	69-74	2009
Piao Z, Shibayama K, Mori S, Wachino J, Arakawa Y	A novel insertion sequence, IS1642, of <i>Mycobacterium avium</i> , which forms long direct repeats of variable length	FEMS Microbiol Lett	291	216-221	2009
Nagano N, Isomine S, Kato H, Sasaki Y, Takahashi M, Sakaida K, Nagano Y, Arakawa Y	Human Fulminant Gas Gangrene Caused by <i>Clostridium chauvoei</i>	Journal of Clinical Microbiology	46(4)	1545-1547	2008



研究成果の刊行に関する一覧表 平成20年度(2)

著者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kawamura-Sato K, Wachino J, Kondo T, Ito H, Arakawa Y	Reduction of disinfectant bactericidal activities in clinically isolated <i>Acinetobacter</i> species in the presence of organic material	Journal of Antimicrobial Chemotherapy	61	568-576	2008
Han H, Kamachi K, Okada K, Toyoizumi-Ajisaka H, Sasaki Y, Arakawa Y	Antigenic variation in <i>Bordetella pertussis</i> isolates recovered from adults and children in Japan	Vaccine	26	1530-1534	2008
Tomita H, Ike Y	Genetic Analysis of the <i>Enterococcus</i> Vancomycin-Resistance Conjugative Plasmid pHT $\beta$ : Identification of the Region involved in Cell Aggregation and <i>traB</i> , a Key Regulator Gene for Plasmid Transfer and Cell Aggregation	Journal of Bacteriology	190(23)	7739-7753	2008
Tanimoto K, Tomita H, Fujimoto S, Okuzumi K, Ike Y	Fluoroquinolone Enhances the Mutation Frequency for Meropenem-Selected Carbapenem Resistance in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , but Use of the High-Potency Drug Doripenem Inhibits Mutant Formation.	Antimicrob Agents Chemother	52(19)	3795-3800	2008
Tanimoto K, Ike Y	Complete nucleotide sequencing and analysis of the 65-kb highly conjugative <i>Enterococcus faecium</i> plasmid pMG1: identification of the transfer-related region and the minimum region required for replication	FEMS Microbiol Lett	288	186-195	2008
Zheng B, Tomita H, Inoue T, Ike Y	Isolation of VanB-Type <i>Enterococcus faecalis</i> Strains from Nosocomial Infections: First Report of the Isolation and Identification of the Pheromone-Responsive Plasmids pMG2200, Encoding VanB-Type Vancomycin Resistance and a Bac41-Type Bacteriocin, and pMG2201, Encoding Erythromycin Resistance and Cytolysin (Hly/Bac)	Antimicrob Agents Chemother	53(2)	735-747	2009
Tomita H, Kamei E, Ike Y	Cloning and Genetic Analyses of the Bacteriocin 41 Determinant Encoded on the <i>Enterococcus faecalis</i> Pheromone-Responsive Conjugative Plasmid pYI14: a Novel Bacteriocin Complemented by Two Extracellular Components (Lysin and Activator)	Journal of Bacteriology	190(6)	2075-2085	2008

研究成果の刊行に関する一覧表 平成20年度(3)

著者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nakata, N., Fujiwara N., Naka T, Yano I, Kobayashi K, Maeda S.	Identification and Characterization of Two Novel Methyltransferase Ggenes That Determine the Serotype 12-specific structure of Glycopeptidolipids of <i>Mycobacterium intracellulare</i>	Journal of Bacteriology	190(3)	1064-1071	2008
Fujiwara, N., Nakata N, Naka T, Yano I, Doe, M., Chatterjee D, McNeil M, P. J. Brennan, Kobayashi, K. Makino M., Matsumoto S., Ogura H, Maeda S	Structural Analysis and Biosynthesis Gene Cluster of an Antigenic Glycopeptidolipid from <i>Mycobacterium intracellulare</i>	Journal of Bacteriology	190(10)	3613-3621	2008
Kai M, N. P. N. Ha, H. T. T. Huong, N. H. An, Fukutomi, Y, Maeda Y, Miyamoto Y, Mukai T, Fujiwara T, N. T. Tan, Makino M.	Serological Diagnosis of Leprosy in Patients in Vietnamese by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay with <i>Mycobacterium leprae</i> -Derived Major Membrane Protein-II	Clin. Vaccine Immunol.	15(12)	1755-1759	2008
Miyamoto Y, Mukai T, Maeda Y, Kai M, Naka T, Yano I, Makino M.	The <i>Mycobacterium avium</i> complex <i>gftB</i> gene Encodes a Glucosyltransferase Required for the Biosynthesis of Serovar 8-Specific Glycopeptidolipid.	Journal of Bacteriology	190(24)	7918-7924	2008
Makino M, Maeda Y, Kai M, Tamura T, Mukai T	GM-CSF mediated T cell activation by macrophages infected with recombinant BCG that secretes major membrane protein-II of <i>Mycobacterium leprae</i> .	FEMS Immunol. Med. Microbiol.	55	39-46	2009
Jian-Hua Liu, Yu-Ting Deng, Zhen-Ling Zeng, Jun-Hua Gao, Lin Chen, Yoshichika Arakawa, Zhang-Liu Chen	Coprevalence of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Determinants <i>qepA</i> , <i>Qnr</i> , and AAC(6)-Ib-cr among 16S rRNA Methylase <i>RmtB</i> -Producing <i>Escherichia coli</i> Isolates from Pigs	Antimicrob Agents Chemother	52(8)	2992-2993	2008
Yamane K, Wachino J, Suzuki S, Arakawa Y	Plasmid-Mediated <i>qepA</i> Gene among <i>Escherichia coli</i> Clinical Isolates from Japan	Antimicrob Agents Chemother	52(4)	1564-1566	2008
Sekiguchi J, Morita K, Kitao T, Watanabe N, Okazaki M, Miyoshi-Akiyama T, Kanamori M, Kirikae T	KHM-1, a novel plasmid-mediated metallo- $\beta$ -lactamase from a <i>Citrobacter freundii</i> clinical isolate	Antimicrob Agents Chemother.	52(11)	4194-4197	2008

研究成果の刊行に関する一覧表 平成19年度(1)

著者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Wachino J., Shibayama K., Kurokawa H., Kimura K., Yamane K., Suzuki S., Shibata N., Ike Y., and Arakawa Y.	Novel Plasmid-Mediated 16S rRNA m <sup>1</sup> A1408 Methyltransferase, NpmA, Found in a Clinically Isolated <i>Escherichia coli</i> Strain Resistant to Structurally Diverse Aminoglycosides	Antimicrob Agents Chemother.	51(12)	4401-4409	2007
Yamane K., Wachino J., Suzuki S., Kimura K., Shibata N., Kato H., Shibayama K., Konda T., and Arakawa Y.	New Plasmid-Mediated Fluoroquinolone Efflux Pump, QepA, Found in an <i>Escherichia coli</i> Clinical Isolate	Antimicrob Agents Chemother.	51(9)	3354-3360	2007
Doi Y., Arakawa Y.	16S ribosomal RNA methylation: emerging resistance mechanism against aminoglycosides	Clin Infect Dis.	45(1)	4401-9	2007
Yamane K., Wachino J., Suzuki S., Shibata N., Kato H., Shibayama K., Kimura K., Kai K., Ishikawa S., Ozawa Y., Konda T., Arakawa Y.	16S rRNA methylase-producing, gram-negative pathogens, Japan	Emerg Infect Dis.	13(4)	642-6	2007
Makino M., Maeda Y., Fukutomi Y., Mukai T.	Contribution of GM-CSF on the enhancement of the T cell-stimulating activity of macrophages.	Microbes and Infect.	9	70-77	2007
Katsube T., Matsumoto T., Takatsuka M., Okuyama M., Ozeki Y., Naito M., Nishiuchi Y., Fujiwara N., Yoshimura M., Tsuboi T., Torii M., Oshitani N., Arakawa T., Kobayashi K.	Control of Cell Wall Assembly by a Histone-Like Protein in Mycobacteria	Journal of Bacteriology	189(22)	8241-8249	2007
Bhatt A., Fujiwara N., Bhatt K., Gurcha S S., Kremer L., Chen B., Chan J., Porcelli S A., Kobayashi K., Besra G S, Jacobs W R, Jr.	Deletion of <i>kasB</i> in <i>Mycobacterium tuberculosis</i> causes loss of acid-fastness and subclinical latent tuberculosis in immunocompetent mice	PNAS	104(12)	5157-5162	2007
B Zheng, Tomita H., YH Xiao, Ike Y.	The first molecular analysis of clinical isolates of VanA-type vancomycin-resistant <i>Enterococcus faecium</i> strains in Mainland China.	Letters in Applied Microbiology	45	307-312	2007

研究成果の刊行に関する一覧表 平成19年度(2)

著者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Maeda Y, Mukai T, Kai M, Fukutomi Y, Nomaguchi H, Abe C, Kobayashi K, Kitada S, Maekura R, Yano I, Ishii N, Mori T, Makino M	Evaluation of major membrane protein-II as a tool for serodiagnosis of leprosy.	FEMS Microbiol. Lettr.	272	202-205	2007
Kai M, Fujita Y, Maeda Y, Nakata N, Izumi S, Yano I, Makino M	Identification of trehalose dimycolate (cord factor) in <i>Mycobacterium leprae</i> .	FEBS Lett.	581	3345-3350	2007
Miyamoto Y, Mukai T, Maeda Y, Nakata N, Kai M, Naka T, Yano I, Makino M	Characterization of the Fucosylation Pathway in the Biosynthesis of Glycopeptidolipids from <i>Mycobacterium avium</i> Complex.	J. Bacteriol. 189(15)		5515-5522	2007
Yamaguchi Y, Wanchun Jin, Matsunaga K, Ikemizu S, Yamagata Y, Wachino J, Shibata N, Arakawa Y, Kurosaki H	Crystallographic Investigation of the Inhibition Mode of a VIM-2 Metallo- $\beta$ -lactamase from <i>Pseudomonas aeruginosa</i> by a Mercaptocarboxylate Inhibitor	J. Med. Chem.	50	6647-6653	2007
B Zheng, Tomita H, YH Xiao, Wang S, Li Y, Ike Y.	Molecular Characterization of Vancomycin-Resistant <i>Enterococcus faecium</i> Isolates from Mainland China	J Clin Microbiol	45(9)	2813-8	2007
Kirikae T, Mizuguchi Y, Arakawa Y	Investigation of isolation rates of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> with and without multidrug resistance in medical facilities and clinical laboratories in Japan	J Antimicrob Chemother.	61(3)	612-5	2008
Sekiguchi J, Asagi T, Miyoshi-Akiyama T, Kasai A, Mizuguchi Y, Araake M, Fujino T, Kikuchi H, Sasaki S, Watari H, Kojima T, Miki H, Kanemitsu K, Kunishima H, Kikuchi Y, Kaku M, Yoshikura H, Kuratsuji T, Kirikae T	Outbreaks of multidrug-resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> in community hospitals in Japan	J Clin Microbiol.	45(3)	979-989	2007
Sekiguchi J, Teruya K, Horii K, Kuroda E, Konosaki H, Mizuguchi Y, Araake M, Kawana A, Yoshikura H, Kuratsuji T, Miyazaki H, Kirikae T	Molecular epidemiology of outbreaks and containment of drug-resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> in a Tokyo hospital	J Infect Chemother	13(6)	418-422	2007